

MeB – Pagine Elettroniche

Volume III

Dicembre 2000

numero 10

PEDIATRIA PER L'OSPEDALE

La guarigione delle ferite cutanee

Tutti, medici e non medici, osserviamo ogni giorno, le grandi capacità riparatrici della cute: ognuno sa che, a meno che non si sovrapponga un'infezione, quando i due labbri della ferita combacino, entro 7 giorni tutto torna perfettamente come prima.

Ho sentito più volte alcune madri lamentarsi che gli strappi sui vestiti non era possibile rimediarli in modo altrettanto perfetto e altrettanto rapidamente, come le ferite della pelle.

Ma a ben pensare, poco ci è stato detto nel corso degli studi sui fenomeni principali che stanno alla base della guarigione delle lesioni della cute e sui processi di cicatrizzazione. La pubblicazione di un articolo di revisione del problema (Singer AJ e Clark RAF, Cutaneous wound healing – N Engl J Med 341, 738-46, 2000) ci offre l'occasione per approfondire le nostre conoscenze sull'argomento.

La funzione primaria della cute è quella di servire come barriera protettiva nei confronti dell'ambiente. La perdita dell'integrità di estese porzioni della cute, in seguito a lesioni o a malattie, può portare a gravi danni e perfino alla morte.

Gli obiettivi principali del trattamento delle ferite sono:

- la rapidità della loro chiusura
- il mantenimento della funzione
- la cicatrice esteticamente soddisfacente

I recenti miglioramenti nelle conoscenze nel campo della biologia cellulare e molecolare hanno allargato le possibilità d'influire sui processi biologici che sono interessati nella guarigione delle ferite e nella rigenerazione della cute: tutto ciò ha portato a miglioramenti della loro cura.

BIOLOGIA DELLA GUARIGIONE DELLE FERITE

La guarigione delle ferite è un processo dinamico, interattivo, che interessa mediatori solubili, cellule del sangue, matrice extracellulare e cellule parenchimali.

Le ferite guariscono secondo 3 fasi, che si sovrappongono l'una all'altra nel tempo:

- infiammazione
- formazione di tessuto
- rimodellamento del tessuto

INFIAMMAZIONE

Ogni lesione di tessuto porta a un'interruzione di vasi sanguigni e a fuoriuscita dei costituenti del sangue. Il coagulo sanguigno che si viene a formare ristabilisce l'emostasi e fornisce una matrice extracellulare provvisoria per la migrazione delle cellule (Vedi Figura n.1.).

La piastrine non soltanto facilitano l'emostasi, ma secernono molti mediatori, utili per la guarigione della ferita (fattori di crescita, originati dalle piastrine, che attraggono i macrofagi e i fibroblasti). Ma in assenza di emorragia, è stato visto che le piastrine non svolgono un ruolo essenziale per la guarigione della ferita. Numerosi mediatori vasoattivi e fattori chemiotattici sono formati dalla coagulazione, dai fattori del complemento attivati e dalle cellule parenchimali lese e attivate. Tutte queste sostanze reclutano leucociti infiammatori nella sede della lesione.

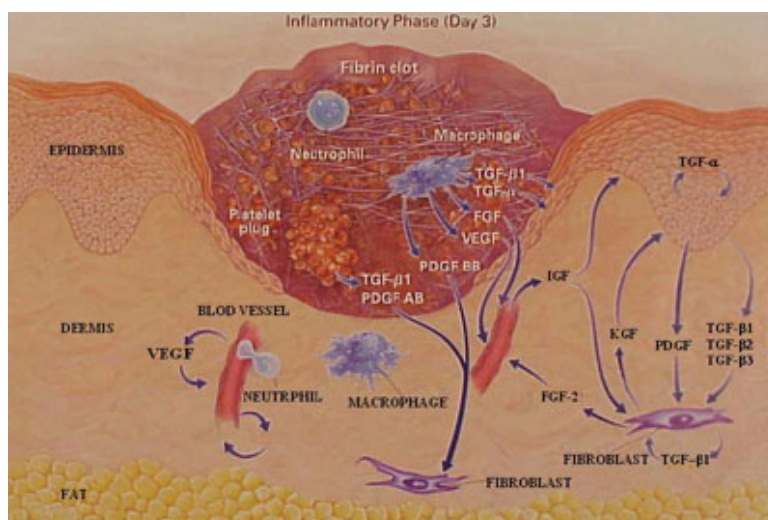


Figura n.1 - Una ferita della cute 3 giorni dopo il trauma

Si pensa che siano necessari fattori di crescita per i movimenti delle cellule all'interno della ferita.

- TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 indicano i fattori di crescita β 1, β 2 e β 3 rispettivamente
- TGF- α 1 indica il fattore di crescita α
- FGF indica il fattore di crescita dei fibroblasti
- VEGF indica il fattore di crescita endoteliale
- PDGF, PDGF AB e PDGF BB indicano il fattore di crescita originato dalle piastrine, il fattore di crescita AB di origine piastrinica e il fattore di crescita BB, originato anch'esso dalle piastrine
- IGF indica il fattore di crescita insulino-simile KGF indica il fattore di crescita dei cheratinociti

I neutrofili ripuliscono la ferita dalle particelle estranee e dai batteri; essi sono poi allontanati dalla ferita o sono fagocitati dai macrofagi. Infatti i macrofagi, richiamati da fattori specifici chemiotattici (frammenti della proteina della matrice extracellulare, fattore di crescita β , proteina 1 attrattiva per i monociti) infiltrano la sede della ferita e divengono macrofagi attivati, che liberano fattori di crescita, come il fattore di crescita, originato dalle piastrine e il fattore di crescita dell'endotelio vascolare, che iniziano a formare il tessuto di granulazione. I macrofagi si legano alle proteine specifiche della matrice extracellulare con i loro recettori integrine, un'azione che stimola la fagocitosi dei microrganismi e dei frammenti della matrice extracellulare da parte dei macrofagi.

L'aderenza alla matrice extracellulare stimola anche i monociti a subire una metamorfosi per passare a macrofagi infiammatori e riparatori. Sia i monociti che i macrofagi attivati esprimono il fattore 1, stimolante le colonie, una citochina necessaria per la sopravvivenza dei monociti e dei macrofagi. Essi secernono anche il tumor necrosis factor α , una potente citochina pro-infiammatoria, il fattore di crescita delle piastrine, un potente chemioattrattivo e i mitogeni per i fibroblasti.

Altre importanti citochine, espresse dai monociti e dai macrofagi, sono rappresentate dal fattore di crescita trasformante α , dall'interleuchina 1, dal fattore di crescita trasformante β e dal fattore 1 di crescita insulino-simile.

I fattori di crescita, originati dai monociti e dai macrofagi sono indispensabili per l'inizio e la propagazione del nuovo tessuto nelle ferite, perché gli animali che ne sono privi hanno difficoltà a riparare le ferite. Per queste ragioni i macrofagi sono considerati avere un ruolo essenziale nella transizione dall'infiammazione alla riparazione.

EPITELIZZAZIONE

La riepitelizzazione delle ferite inizia poche ore dopo la lesione.

Le cellule epidermiche delle appendici cutanee, come i follicoli piliferi, rimuovono precocemente il sangue coagulato e lo stroma danneggiato dallo spazio della lesione. Nello stesso tempo le cellule presentano notevoli alterazioni fenotipiche, che includono la retrazione dei tonofilamenti intracellulari, la dissoluzione della maggior parte dei desmosomi intercellulari, che costituiscono le connessioni fra le cellule e la formazione di filamenti di actina che permettono i movimenti delle cellule. Contemporaneamente le cellule epidermiche e dermiche non aderiscono più le une alle altre per la scomparsa dei legami degli emidesmosomi che collegano l'epidermide alla membrana basale, che segue i movimenti laterali delle cellule epidermiche. I recettori dell'integrina sulle cellule epidermiche li portano a interagire con una varietà di proteine della matrice extracellulare (per esempio fibronectina e vitronectina) che sono intercalate con il collagene stromale tipo I, ai margini della ferita e si intrecciano con il coagulo di fibrina nell'area della ferita. Le cellule epidermiche migranti suddividono la ferita, separando la parte morta o sofferente dal tessuto vivo.

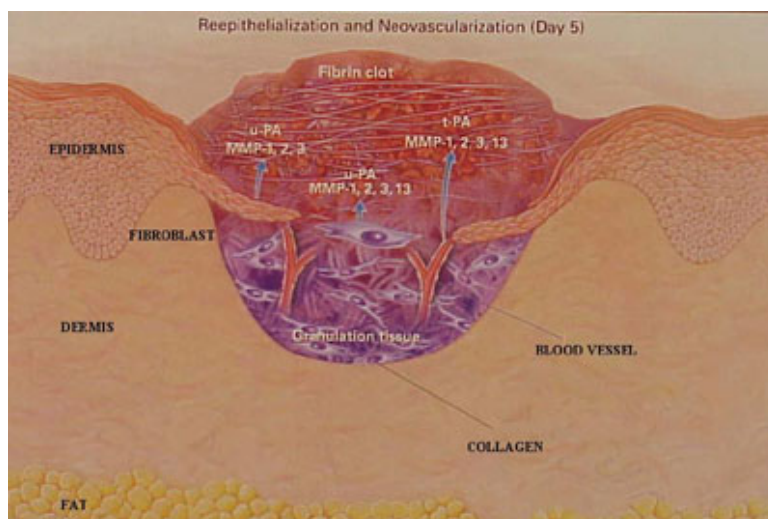


Figura n. 2 - La ferita della cute 5 giorni dopo la lesione

I vasi sanguigni si avanzano nel coagulo di fibrina. Le proteinasi sembrano siano necessarie per i movimenti delle cellule.

u-PA indica l'attivatore del plasminogeno tipo urochinasi

MMP-1, 2, 3 e 13 indicano le metalloproteinasi della matrice 1, 2, 3 e 13 (colagenasi 1, gelatinasi A, stromelisinasi 1 e collagenasi 3 rispettivamente)

t-PA indica l'attivatore del plasminogeno tissutale

La degradazione della matrice extracellulare, che è necessaria per le cellule epidermiche che migrano fra il derma collagene e l'escara di fibrina, dipende dalla produzione di collagenasi da parte delle cellule epidermiche, come dall'attivazione della plasmina da parte dell'attivatore del plasminogeno, prodotto dalle cellule epidermiche. L'attivatore del plasminogeno infatti attiva la collagenasi e facilita inoltre la degradazione del collagene e delle proteine della matrice extracellulare.

Da 1 a 2 giorni dopo la lesione, le cellule epidermiche ai bordi della ferita, iniziano a proliferare in ritardo in confronto alle cellule attivamente migranti. Lo stimolo necessario per la proliferazione e la migrazione delle cellule epidermiche durante la riepitelizzazione non è stato ancora identificato, ma di sicuro esso esiste. L'assenza delle cellule vicino ai margini della ferita (l'effetto **"bordo libero"**) può indurre tuttavia sia la migrazione che la proliferazione delle cellule epidermiche. La liberazione locale di fattori di crescita e l'aumentata espressione dei recettori per questi fattori possono anche rappresentare lo stimolo per questi processi (fattori di crescita epidermica, fattore a trasformare la crescita, fattore di crescita dei cheratinociti). Dopo il completamento della riepitelizzazione, ricompaiono le proteine della membrana basale, in una ordinata sequenza, dai margini verso l'interno della ferita. Le cellule epidermiche riacquistano il loro normale fenotipo e sono di nuovo strettamente adese alla nuova membrana basale e al derma sottostante.

FORMAZIONE DEL TESSUTO DI GRANULAZIONE

Il nuovo stroma, chiamato tessuto di granulazione, comincia a invadere lo spazio della ferita, all'incirca 4 giorni do-

po la lesione. Numerosi nuovi capillari si sfoccano all'interno del nuovo stroma. Macrofagi, fibroblasti e vasi sanguigni penetrano contemporaneamente all'interno della ferita. I macrofagi costituiscono una fonte continua dei fattori di crescita necessari a stimolare la fibroplasia e l'angiogenesi, mentre i fibroblasti producono nuova matrice extracellulare, necessaria per assicurare la crescita delle cellule. Intanto i vasi sanguigni portano l'ossigeno e i nutrienti necessari per mantenere il metabolismo delle cellule.

I fattori di crescita, soprattutto il fattore di crescita derivato dalle piastrine e il fattore trasformante di crescita b1, insieme con le molecole della matrice extracellulare, stimolano probabilmente i fibroblasti del tessuto intorno alla ferita, a proliferare, a esprimere gli appropriati recettori per l'integrina e a migrare nello spazio della ferita. Questi fattori hanno trovato un'utile indicazione nella pratica corrente: il fattore di crescita, originato dalle piastrine, accelera la guarigione delle piaghe pressorie croniche, delle ulcere diabetiche, mentre il fattore di crescita dei fibroblasti basali viene usato con qualche successo nel trattare le ulcere pressorie croniche.

Le molecole strutturali della matrice extracellulare, di recente formazione, chiamata matrice provvisoria, contribuiscono alla formazione del tessuto di granulazione: queste molecole sono rappresentate dalla fibrina, dalla fibronectina e dall'acido ialuronico. Infatti la comparsa della fibronectina e dei recettori dell'integrina, che legano la fibronectina stessa, la fibrina o ambedue ai fibroblasti, sembra essere il passo limitante la velocità di formazione del tessuto di granulazione. I fibroblasti sono d'altra parte responsabili della sintesi, della deposizione e del rimodellamento della matrice extracellulare. All'inverso la matrice extracellulare può avere un effetto positivo o negativo sulla capacità dei fibroblasti di sintetizzare, depositare, rimodellare e in genere interagire con la matrice extracellulare.

Citochine	Origine principale	Cellule bersaglio ed effetti maggiori
Famiglia dei fattori di crescita epidermica: - fattore di crescita epidermica - fattore a di crescita trasformante - fattore di crescita epidermica legante l'eparina	- piastrine - macrofagi, cellule epidermiche - macrofagi	Rigenerazione epidermica e parenchimale: - motilità e proliferazione cellulare - motilità e proliferazione cellulare - motilità e proliferazione cellulare
Famiglia del fattore di crescita fibroblastica: - fattore basico di crescita fibroblastica - fattore acido di crescita fibroblastica - fattore di crescita dei cheratinociti	- macrofagi, cellule endoteliali - macrofagi, cellule endoteliali - fibroblasti	Vascolarizzazione della ferita: - angiogenesi e proliferazione dei fibroblasti - angiogenesi e proliferazione dei fibroblasti - angiogenesi e proliferazione dei fibroblasti
Famiglia del fattore b di crescita trasformante - fattore b1 e b2 di crescita trasformante - fattore b3 di crescita trasformante	- piastrine e macrofagi - macrofagi	Fibrosi e aumento della forza di tensione - motilità delle cellule epidermiche, chemiotassi di macrofagi e fibroblasti, sintesi e rimodellamento della matrice extracellulare - effetti anticicatrici

Altri - fattore di crescita derivato dalle piastrine - fattore di crescita dell'endotelio vascolare - tumor necrosis factor α - interleuchina-1 - fattori I di crescita insulino-simile - fattore I stimolante le colonie	- piastrine, macrofagi, cellule epidermiche - cellule epidermiche, macrofagi - neutrofili - neutrofili - fibroblasti, cellule epidermiche - numerosi tipi di cellule	- proliferazione dei fibroblasti, chemioattrazione, attivazione e chemioattrazione dei fibroblasti - angiogenesi e aumentata permeabilità vascolare - espressione pleiomorfica dei fattori di crescita - espressione pleiomorfica dei fattori di crescita - riepitelizzazione e formazione del tessuto di granulazione - attivazione dei macrofagi e formazione del tessuto di granulazione
---	--	---

I movimenti delle cellule all'interno del coagulo sanguigno, formato dalla fibrina, o nella matrice extracellulare fortemente compatta, può richiedere un attivo sistema proteolitico che può aprire la strada alla migrazione cellulare. Molti degli enzimi, originati dai fibroblasti, oltre alla plasmina del siero, sono adibiti a quest'opera, insieme all'attivatore del plasminogeno, alle collagenasi, alla gelatinasi A e alla tromelina.

Dopo essere migrati all'interno della ferita, i fibroblasti cominciano a sintetizzare la matrice extracellulare, che viene successivamente rimpiazzata dalla matrice del collagene, forse in seguito all'azione del fattore b1 di crescita trasformante.

Dopo che un'abbondante quantità di matrice del collagene è stata depositata nella ferita, i fibroblasti cessano di produrre collagene e il tessuto di granulazione, ricco di fibroblasti, viene rimpiazzato da una cicatrice, relativamente povera di cellule. Le cellule presenti nella ferita vanno incontro ad apoptosi, in seguito all'azione di un segnale sconosciuto. La mancata regolazione di questi processi è la responsabile delle alterazioni della fibrosi della cicatrice, che porta alla formazione del cheloide, della morfea e dello scleroderma.

NEOVASCULARIZZAZIONE

Per la nutrizione del nuovo tessuto di granulazione è necessaria la formazione di nuovi vasi sanguigni. L'angiogenesi è un processo complesso che si realizza nella matrice extracellulare del letto della ferita, al quale partecipa la migrazione e la stimolazione mitogena delle cellule endoteliali.

L'induzione dell'angiogenesi fu inizialmente attribuita al fattore di crescita fibroblastica acido o basico. Ma in seguito è risultato che molte altre molecole posseggono attività angiogenica, come il fattore di crescita dell'endotelio vascolare, il fattore b di crescita trasformante, l'angiotropina, l'angiopoietina I e la trombospondina. La bassa tensione di ossigeno e l'elevata concentrazione di acido lattico possono d'altra parte stimolare l'angiogenesi. Anche le cellule epidermiche stimolate della ferita secernono grandi quantità di fattore di crescita dell'endotelio vascolare. Il fattore basico di crescita fibroblastica può costituire la piattaforma dell'angiogenesi durante i primi 3 giorni di riparazione della ferita, mentre il fattore di crescita delle cellule dell'endotelio vascolare è importante per l'angiogenesi durante la formazione del tessuto di granulazione da 4° al 7° giorno.

Oltre ai ricordati fattori dell'angiogenesi, sono necessari anche la matrice extracellulare e i recettori endoteliali per la formazione della matrice provvisoria. Durante la proliferazione, le cellule endoteliali microvascolari, vicine o all'interno della ferita, depositano elevate quantità di fibronectina all'interno della parete vasale. La fibronectina perivascolare può agire come una guida per i movimenti delle cellule endoteliali, all'interno della ferita. Anche l'espressione e l'attività delle proteasi sono necessarie per l'angiogenesi.

I vari passi, che si susseguono nella angiogenesi sono ben visibili nella Figura n.2:

- il trauma causa distruzione di tessuto e ipossia
- i fattori necessari per l'angiogenesi, come il fattore basico e il fattore di crescita dei fibroblasti, sono rilasciati immediatamente dai macrofagi, dopo la distruzione cellulare
- l'ipossia stimola la produzione del fattore di crescita delle cellule dell'endotelio vascolare da parte delle cellule dell'epidermide
- enzimi proteolitici, liberati dal tessuto connettivo, degradano le proteine della matrice extracellulare
- frammenti di questa degradazione richiamano i monociti del sangue periferico nella sede della lesione, dove essi iniziano ad attivare i macrofagi a liberare i fattori dell'angiogenesi.
- alcuni di questi fattori, come il fattore basico di crescita dei fibroblasti, stimolano le cellule endoteliali a liberare l'attivatore del plasminogeno e la procollagenasi
- l'attivatore del plasminogeno converte il plasminogeno in plasmina, mentre la procollagenasi attiva la collagenasi: ambedue le proteasi digeriscono la membrana basale
- la frammentazione della membrana basale induce le cellule endoteliali, stimolate dai fattori dell'angiogenesi a migrare per formare i nuovi vasi sanguigni nella sede della lesione.
- quando la lesione si è arricchita di nuovo tessuto di granulazione, l'angiogenesi cessa e la maggior parte dei nuovi vasi sanguigni scompare, come conseguenza dell'apoptosi.
- la morte programmata di queste cellule è regolata probabilmente da una varietà di molecole della matrice, come la trombospondina 1 e 2, i fattori antiangiogenesi, come l'angiostatina, l'endostatina e l'angiopoietina 2.